Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der Universität München.
(Vorstand: Prof. M. Richter)

Die mikrochemischen Spermareaktionen in der forensischen Praxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Georg Egger,
aus Untergriesbach.

München 1912.
Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Aus dem Gerichtlich-medizinischen Institut der
Universität München.
(Vorstand: Prof. M. Richter)

Die mikrochemischen Spermareaktionen in der forensischen Praxis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Georg Egger,
aus Untergriesbach.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

München 1912.
Kgl. Hofbuchdruckerei Kastner & Callwey.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Prof. Dr. Borst.

Zu den bedeutungsvollsten Beweismitteln in gerichtlichen Fällen gehören die Ergebnisse von Spermauntersuchungen. Ihr Wert für die forense Praxis liegt vor allem in dem objektiven Nachweise eines stattgehabten Geschlechtsaktes bei Unzuchtsdelikten, Lustmorden, gelegentlich sind sie auch in zivilrechtlichen Streitsachen von Wichtigkeit.

Flüssiges Sperma wird in Fällen der Praxis nur ausnahmsweise zur Untersuchung kommen, z. B. bei Untersuchungen auf Potenz in Alimentations- und Ehescheidungssachen. Meist kommen in Betracht Spermaflecke auf Gegenständen, Kleidern, Hemden, Unterkleidern, Bettwäsche, dann viel seltener auf Möbeln, auch Dielen. Makroskopisch repräsentieren sich Spermaflecke auf Holz wie eingetrockneter dünner Leim, auf weißer, imbibitionsfähiger Leinwand sieht man eine landkartenartige Zeichnung, leicht gelblich, an den Rändern etwas grau gefärbt. Beim Tasten fühlt man eine eigentümliche rauhe Oberfläche. Beim Reiben mit feuchten Fingern kann sich ein kastanienblütenartiger Geruch bemerkbar machen. Auf schwer imbibitionsfähigen Stoffen, z. B. Wolle, sieht man grau-

weiße Schüppchen. An Glas trocknet das Sperma zu einem glatten, gleichmäßig dicken, grauweißen Häutchen an.

Zur Untersuchung auf Sperma kommen weiter in Betracht lebende Personen. Meist sind es weibliche geschlechtsreife Personen, dann aber auch Kinder. Ausnahmsweise kommen in Betracht Männer bezw. Knaben bei Päderastie. Ganz selten werden Tiere oder Sperma von solchen zur Untersuchung kommen.

Der Nachweis von Sperma kann auch von Wichtigkeit sein bei Leichen. Spermaflüssigkeit und Sperma können sich finden in der Umgebung der äußeren Genitalien, in der Vagina, im Uterus, in den Tuben.

Die älteste und einfachste Methode der Untersuchungen ist der mikroskopische Nachweis gut erhaltener Spermatozoen. Besonders bei noch nicht zu altem Sperma genügt die Aufweichung der Flecken in Kochsalzlösung, besser in destilliertem Wasser, um mikroskopisch die Samenfäden erkennbar zu machen. Selbstverständlich darf die aufweichende Flüssigkeit keinen zellschädigenden Charakter tragen.

Um eine bessere und schnellere Aufweichung zu bewirken, wurden zur Maceration verschiedene Flüssigkeiten empfohlen, so von Filomusi-Guelfi Ammoniak, von Puppe das von Richter für den forensischen Blutnachweis angegebene Pepsinglyceringemisch;

weiter benutzte Puppe zur Aufhellung des Präparates die ebenfalls beim Blutnachweis verwendete Pacini'sche Flüssigkeit. Aufhellender Glycerinzusatz zum Wasser wurde von v. Hofmann angewandt, besonders wenn der zu untersuchende Fleck stark mit Kot, Schleim und Blut verunreinigt war. Koblank nahm zur Aufhellung Essigsäure, während Laseigne Kalilauge vorschlug. Ungar benutzte zur Aufweichung von Spermaflecken stark verdünnte Salzsäure.

Wichtig ist auch die Zubereitung des verdächtigen Gewebes zur Aufweichung.

Nach Koblank wird ein talergroßes Stück des betreffenden Fleckens in einer Porzellanschale mit geeigneter Macerationsflüssigkeit aufgeweicht. Nach Maschka werden Streifen aus dem betreffenden Stück ausgeschnitten und mit dem einen Ende in ein Schälchen mit etwas Wasser gebracht, dann auf den Objektträger aufgedrückt. Andere raten, den zentralen Teil des Fleckens in kleine Stückchen zu zerschneiden und dann aufzuweichen. Um die Spermatozoen möglichst zu schonen, empfahl Tardieu, von dem befleckten Gewebe etwas abzulösen, während Roussin vorschlug, die betreffenden Gewebe in Fasern zu zerzupfen. Hier ist noch zu erwähnen das Macerationsverfahren von Marx, der den verdächtigen Flecken in kleine Stückchen schneidet, aufweicht und dann Tropfen für Tropfen untersucht. Fränkel

empfiehlt dabei das Sedimentierungsverfahren anzuwenden.

Nach dieser Vorbereitung wird die eigentliche Untersuchung mit dem Mikroskop bei etwa 200—400facher Vergrößerung vorgenommen, wobei bald die Macerationsflüssigkeit, bald die Zupfpräparate aus den Flecken zur Untersuchung gelangen. Die Diagnose ist nur dann sicher zu stellen, wenn sich ein vollständiges, aus Kopf und Schwanz bestehendes Spermatozoon nachweisen läßt. Um die wegen ihres geringen Lichtbrechungsvermögens schlecht sichtbaren Spermatozoen deutlicher zu machen, untersuchte Pincus das zwischen Objektträger und Deckgläschen eingetrocknete Macerat.

Wesentlich erleichtert wurde die Untersuchung auf Spermatozoen, als Roussin eine Färbung mit wässeriger Jodjodkaliumlösung vorschlug und den Anstoß zur Färbung der Spermatozoen gab. Schnitter nahm dazu Eosin.

Weiterhin wurde zur Maceration des Flekkens eine den Farbstoff bereits enthaltende Flüssigkeit verwendet; so nahm Longuet Ammoniak-Carminlösung, Wederhake Jodtinktur und Crocëin-Scharlachlösung. Gute Resultate erzielte Ungar mit seiner Methylgrün-Methode und mit Hämatoxylin-Eosin, Bräutigam mit der Malachitgrünfärbung.

Einen gewissen Fortschritt brachte Steil-

berger mit der Methode der Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Eosin.

Als vorzüglich erwies sich die neuerdings eingeführte Methode der Färbung mit Säurefuchsin nach Baecchi.

Erwähnt sei hier auch der Spermatozoennachweis nach Zerstörung des Gewebes mit Schwefelsäure von Grigorjew, ein Verfahren, das sich keinen Eingang in die forense Praxis zu verschaffen vermochte, ebensowenig wie die von Perrando angegebene umständliche Schnittmethode, und auch die von de Domenicis empfohlene Zerstörung des Gewebes durch das Schweitzer'sche Reagenz.

In jüngster Zeit wurde von Joesten ein neues Verfahren ausgearbeitet, das sich vor allem durch sparsame Verwertung des Materials auszeichnet. Joesten verwendete folgende Lösungen zu gleichen Teilen gemischt:

Lösg. A.:	Hämatoxylin	1,0
	Alkohol. abs.	100,0
Lösg. B.:	1,5 proz. Pikrinsäure	120,0
	Liqu. ferri sesquichl.	5,0

und dazu 10 Tropfen einer 8 prozentig. Jodkalilösung auf 6—7 ccm der Mischung in einem Reagenzglas. Darin werden die Flecke, die 24 Stunden mit Resorcin vorbehandelt wurden, im heißen Wasserbad genau eine halbe Stunde lang durchgefärbt. Nach genau einer halben Stunde wird das Reagenzglas mit Brunnenwasser vollgefüllt und in eine weite Schale mit Wasser entleert. Die Differenzierung ge-

schieht 3—4 Minuten lang mit folgender Lösung:

Konz. wässr. Lösg. Acid. oxal. 10,0 ccm
Acid. picronitr. 1,0 ccm
1 proz. alk. (96%) Tanninlösg. ad 100,0

Nach der Differenzierung werden die Flecke wieder in Brunnenwasser gut ausgewaschen. Dann werden auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser oder Glycerin die Fäden sorgfältig gelockert. Ein Vorzug des Verfahrens ist die dauernde Haltbarkeit des Präparates.

So einfach und einwandfrei auch durch die mikroskopische Methode die Spermatozoen bei noch einigermaßen gut erhaltenem Sperma nachgewiesen werden können, so wird es immerhin Fälle geben, in denen man mit diesem Verfahren nicht auskommen wird. In relativ kurzer Zeit verlieren die Samenfäden durch Eintrocknen oder durch die zerstörende Wirkung des Vaginalsekrets oder durch Fäulnis ihre charakteristische Form, indem sie in Kopf und Schweif zerfallen, vielleicht schon in den Flecken, zumeist wohl erst bei den zum Nachweis nötigen eingreifenden Macerationsmethoden. Weiterhin kennt man auch Fälle von Azoospermie, z. B. nach Epididymitis, bei Alkoholikern, temporäre Azoospermie aus verschiedenen Ursachen, Fälle, in denen natürlich der mikroskopische Nachweis der Samennatur der betreffenden Flecke nicht gelingen kann. Außerdem ergab sich bald in der fo-

rensischen Praxis das Bedürfnis an den meist stark verunreinigten Objekten durch einfache mikrochemische Reaktionen diejenigen Flecke herauszufinden, welche der immerhin mühevollen und zeitraubenden mikroskopischen Untersuchung mit Aussicht auf Erfolg zu unterziehen wären.

So hat man schon seit geraumer Zeit versucht, andere Methoden zur Ermöglichung der Diagnose ausfindig zu machen. Orfila nahm Salpetersäure zum Nachweis, während Lasaigne Bleioxyd in Kalilauge empfahl, beides Proben, die sich nicht als brauchbar erwiesen.

Endlich fand Florence (Lyon) im Jahre 1895 eine neue, brauchbare Methode, indem er, ausgehend von der Idee, daß das Sperma alkaloide Stoffe enthalte, eine Reihe von Alkaloidreaktionen an Spermaflecken versuchte. Nach langen Versuchen gelang es ihm, ein auf Sperma anscheinend spezifisch wirkendes Reagenz herzustellen, die nach ihm benannte Florence'sche Lösung:

Jod	1,65
Jodkalium	2,54
Aqua destill.	30,00

Sperma gab mit diesem Reagenz Kristalle, die eine außerordentliche Aehnlichkeit mit den Häminkristallen hatten.

Ein großer Vorteil der Methode besteht in der Einfachheit der Ausführung. Man bringt auf einen Objektträger getrennt je einen Tropfen Spermaflüssigkeit und einen Tropfen

des Reagens, bedeckt dann beide mit einem Deckgläschen so, daß sich beide Flüssigkeiten in einer Linie berühren. An der Grenzschichte werden die Kristalle in großer Menge entstehen. Der mikroskopische Vorgang ist folgendermaßen: Wo Sperma und Reagens sich treffen, entsteht ein feinkörniger Niederschlag. Aus diesem heben sich bald kleine, nadelförmige, feine Kristalle hervor, die sich rasch vergrößern. Es entstehen so gerade, schlanke Stäbchen, Nadeln, Spindeln, schwalbenschwanzförmige und andere mehr unregelmäßige Figuren.

Physikalisch sind die Kristalle charakterisiert durch ihre Löslichkeit in Aether, Alkohol, sowie in Lösungen von Jodkali, ferner durch ihr Doppelbrechungsvermögen, indem sie polarisiertes Licht in der Längsrichtung auslöschen, in der Querrichtung jedoch durchtreten lassen. Weiterhin konstatierte Takayama, daß sie grünes und rotes Licht durchlassen.

Sollte nun diese Probe ausschlaggebend sein, so dürfte sie nur bei Sperma positiv ausfallen. Florence hielt diese Voraussetzung für gegeben, da er bei keiner anderen Körperflüssigkeit eine positive Reaktion fand. Er nahm darum an, daß im Sperma eine Verbindung — Virispermin nannte er sie — vorhanden sei, die diese Kristallbildung hervorriefe. Allein die Untersuchungen von Richter brachten viele Beweise, daß das Cholin, ein

Zersetzungsprodukt des Lecithins, diese Reaktion auslöse. Er fand, daß zersetztes Lecithin die typischen Kristalle mit der Jodlösung gab. Auch mit verschimmeltem Eigelb gelang die Reaktion — Eigelb enthält ja reichlich Lecithin. Nach Richter und Gumprecht kann die Reaktion auch bei einer gewissen Zersetzung von Organen oder Körperflüssigkeiten positiv ausfallen. Aber auch die Angabe Florences, daß nur menschliches Sperma diese Reaktion gebe, wurde bald widerlegt. Richter und Di Mattei fanden, daß auch tierisches Sperma die Reaktion gebe. So erhielten sie Kristalle mit dem Samenblaseninhalt und mit dem Hodensaft von Meerschweinchen, mit dem Hodensaft von Hunden, Kaninchen, Lämmern, Schweinen und Fischen.

Ich möchte gleich hier einen Nachteil der Florence-Probe erwähnen, das ist ihr negativer Ausfall bei Fäulnis oder Schimmelbildung des Spermas. Schon in seiner zweiten Arbeit erklärte das Richter damit, daß eben die Abspaltung des Cholins je nach dem Grade und der Art der Fäulnis eine verschiedene ist. Nach seinen Untersuchungen kam er zu dem Ergebnis, daß nicht die vollständige Zersetzung, sondern wahrscheinlich die Art der Fäulnis auf den Ausfall der Reaktion von Einfluß ist. Eine Stütze fand er darin, daß namentlich verschimmelte Organe reichlich Kristalle geben; verschimmeltes Eigelb gab die Reaktion, während frisches und eingetrockne-

tes Eigelb sich negativ verhielt. Aber auch trockenes kann sehr schön die Florence-Reaktion geben, wie Dr. Joesten an einem länger liegenden und daher schon etwas zersetzten Ei fand. Er erklärt dies damit, daß das Eigelb in dem Moment eintrocknete, als Cholin sich schon abgespalten hatte. Infolge des Eintrocknens konnte sich höhergradige Fäulnis, die das Resultat der Reaktion beeinträchtigt hätte, nicht mehr entwickeln. Nicht überall gab jedoch das Eigelb die Reaktion, teils weil die Zersetzung schon weiter vor sich gegangen, teils weil sie noch nicht eingetreten war. Woher kommt es nun, daß gerade verschimmeltes Eigelb diese Reaktion so schön gibt? Wenn man an einem sehr schön und lang gewachsenen Schimmel die Florence-Reaktion mit den obersten Teilen, den Sporangien und Sporen, vornimmt, ohne etwas von dem Eigelb mitzunehmen, so findet man, daß der Schimmel allein diese Reaktion gibt. Auf Gelatine übertragen, wuchs dieser Schimmel wieder in schönen und hohen Pilzrasen. Es wurde auch mit diesen die Florence-Reaktion versucht; sie fiel negativ aus. Der Schimmel stellt also auf dem Ei ein Cholin-Reservoir dar, offenbar durch Spaltung des Lecithins und Aufnahme des Cholins in die Sporangien und Sporen und daher tritt gerade beim verschimmelten Ei und bei verschimmelten Organen die Florence-Reaktion so prompt ein, während das Eigelb selbst die Reaktion nicht gibt. Auch Ei, auf

dem der Schimmel sich nur unvollkommen fortbrachte, bei dem die Zersetzung schon durch den Geruch wahrnehmbar war, gab die Reaktion nicht; es wird vielleicht durch die Fäulnis die Cholinreaktion verhindert. Daß noch zersetzbares Lecithin vorhanden ist, ergibt sich aus folgendem: Kocht man das stark zersetzte Eigelb in Säuren, so wird die Reaktion nach Auswaschen der Säure wieder positiv.

Daß in gewissem Grade die Fäulniserreger bezw. irgendwelche ihrer Produkte eine Rolle bei dem negativen Ausfall der Florence-Reaktion spielen, dafür spricht noch anderes. Bringt man zersetztes, nicht eingetrocknetes, schon lange stehendes Ei, das die Reaktion nicht gibt, in Formalin und macht man damit die Florence-Reaktion, so gibt es sehr viele und schöne Kristalle. Auch bei Leichenorganen, die in einem gewissen Grade der Zersetzung in Formalin gebracht werden, fällt die Reaktion positiv aus. Vielleicht werden Fäulnisprodukte, die den negativen Ausfall der Reaktion verschulden, durch die Einwirkung des Formalins zerstört. Selbstverständlich muß schon eine Abspaltung von Cholin stattgefunden haben; denn ganz frische Organe geben die Reaktion nicht, wie ja schon Richter 1897 nachgewiesen hat. Bringt man sie in frischem Zustand in Formalin, so werden sie nie die Reaktion geben.

Am besten geben auch hier wieder die ver-

schimmelten Organe die Reaktion, was verständlich ist, da ja nach den oben mitgeteilten Erfahrungen Schimmelpilze wohl elektiv Cholin aufnehmen und aufspeichern. Gefaulte Organe geben natürlich die Reaktion nicht mehr, wenn durch weitgediehene Fäulnis die Spaltung des Lecithins über die Abspaltung und den Zerfall des Cholins hinausgegangen ist. Auch andere Körper als Sperma geben die Florence-Probe. So fand Posner dieselbe positiv bei dem aktiven Spermin von Poehl. Florence erhielt mit Betain Kristalle, aber von anderer Form, als die Cholinkristalle. Richter fand mit dem Chlor-Platinsalze des Neurins Kristalle von dunkelbrauner Farbe und als wohlausgebildete schiefe Parallelogramme. Protagon gibt ebenfalls, mit Salzsäure gekocht, die Reaktion. (Es entsteht neben anderen Zersetzungsprodukten Cholin.) Merkwürdigerweise gibt sehr schöne Kristalle das Pyridin. sulfuricum, auch noch bei sehr starker Verdünnung. Es überwiegen dabei die Schwalbenschwanzformen. Aber man findet alle Kristallformen, wie sie auch beim Sperma sich finden. Wie die Florence-Kristalle, so sind auch diese Kristalle in Alkohol und Äther löslich. Ob und welche Analogien bestehen zwischen dieser letzteren „Reaktion" und der Florence'schen, muß dahingestellt bleiben.

Nach all dem ist klar, daß die Florence-Probe keine spezifische Reaktion auf Sperma darstellt. Nichtsdestoweniger ist ihr doch

keineswegs die praktische Verwertbarkeit abzusprechen. Da fast alle Flecken, die Spermatozoen enthalten, die Reaktion geben, so sind sich alle Untersucher darüber einig, daß sie eine Vorprobe von ausgezeichnetem Wert ist, die die Auffindung von Spermaflecken erleichtert. Dafür spricht auch die Einfachheit der Ausführung und die leichte Auffindbarkeit der charakteristischen Kristalle.

Hier sind noch einige Modifikationen der Florence-Probe zu erwähnen. So fanden M. Lecco und Bocarius, daß eine Lösung von Jod in anderen Salzlösungen ein gutes Reagens abgibt. Positive Resultate lassen sich nach Bocarius auch mit Jodmetallverbindungen ohne Jodzusatz erzielen, auch mit Lösungen des Jod in Formalin, dann mit Jodlösungen in Alkohol, Aether, Chloroform und Photogen. Grigorjew empfahl eine kleine Aenderung: Die Macerationsflüssigkeit wird zuerst eingetrocknet und dann erst die Florence-Lösung hinzugesetzt. Um die Beeinträchtigung der Reaktion bei starken Beimengungen von Harn, Blut und Schleim aus der Vagina, von Eiter usw. auszuschalten, versuchte er folgende Methode: Der verdächtige Flecken wird mit einem Reagens maceriert, das aus einer Lösung von 2% Kaliumjodat und 2% Jodkalium sich zusammensetzt, oder man gibt dieses Reagens zu dem wässerigen bezw. alkoholischen Macerat und bringt dazu verdünnte 5 proz. Phosphorsäure oder 10—20 proz. Essigsäure, bis eine

braune Trübung entsteht. Bei Anwesenheit von Sperma treten dann zahlreiche feine, hellbraune Kristalle auf, die nach einigen Stunden zu großen, schönen Formen werden.

Nach Fränkel wird ein verunreinigter Flecken mit Alkohol extrahiert, nach dem Verjagen des Alkohols der Rückstand mit Wasser aufgenommen und zur Reaktion gebracht.

Eine andere mikrochemische Probe auf Sperma wurde durch Barberio (Neapel) eingeführt. Die Ausführung ist ebenso einfach wie bei der Florence-Reaktion. Das Reagens stellt eine konzentrierte wässerige oder alkoholische Pikrinsäurelösung dar. Von der verdächtigen Substanz bringt man, wie bei Florence, einen Tropfen auf einen Objektträger und setzt dazu einen Tropfen des Reagens. Sofort oder nach kurzer Zeit bildet sich ein weißlicher oder gelblicher Niederschlag. Man bedeckt ihn mit einem Deckgläschen und sieht bei starker Vergrößerung und bei stärkerer Abblendung gelbe, feine Kristalle. Sie vergrößern sich nach einiger Zeit, aber sie erlangen nie die Größe und Deutlichkeit der Florence'schen Kristalle. Nach Barberio erhalten sie die Größe von 10—15 μ, meist sind es rhombische Formen. Doch kommen ziemlich viele Kristalle von traubenartiger Form vor. Außerdem entstehen kreuz- und sternartige Gebilde.

Barberio hielt die mit der Pikrinsäure reagierende Substanz für ein Protamin. Die Untersuchungen anderer Forscher und beson-

ders Takayamas ergaben, daß die reagierende Substanz aus der Prostata stammt und wahrscheinlich Sperminphosphat darstellt.

Einen vollen Wert nun könnte man der Reaktion zusprechen, wenn sie spezifisch allein auf Menschensperma wäre. Barberio glaubte, diese Forderung erfüllt zu haben. Allein andere Untersucher erhielten Kristalle mit Leberextrakt, Liebigs Fleischextrakt, Asthmasputum und auch normalem Speichel. Mazano hielt die Kristalle, die er aus dem Saft von menschlichen Organen (Leber und Milz) mit Pikrinsäure erhielt, für Barberio'sche Kristalle. Spermin, das künstliche Produkt aus Stierhoden, gibt die Kristalle in schönster Form. De Dominicis stellte aus Organextrakten, mittels ammoniakalischem Alkohol gewonnen, typische Kristalle her. Aehnliche Beobachtungen machte Fränkel beim Kochen von Leber, Milz, Thymus usw. mit Mineralsäuren. Takayama stellte aus Hoden von Rind, Pferd und Hund Sperminphosphat dar und erhielt damit sehr schön die Barberio'sche Reaktion.

Ein großer Nachteil der Pikrinsäure-Reaktion ist ihre Unzuverlässigkeit gegenüber älteren Spermaflecken. Fränkel und Müller erhielten mit dem wässerigen Auszuge wenige Tage alter Samenflecke Kristalle, aber schon nach wenigen Wochen oder Monaten fiel die Reaktion negativ aus. Auch Fäulnis ist nicht ohne schädigenden Einfluß, wie Cevidalli

und Fränkel nachweisen. Freilich scheint die Barberio'sche Reaktion in dieser Richtung weniger empfindlich zu sein, als die Florence-Probe. Von Wichtigkeit ist auch der Verdünnungsgrad. Nur ganz konzentrierte Auszüge aus Spermaflecken geben die Reaktion, wenn es sich um ältere Spuren handelt.

Aus alldem ergibt sich, daß auch die Barberio'sche Reaktion keinen Anspruch auf Spezifität erheben kann. Auch sie kann nur als Vorprobe zur leichteren Auffindung von Spermaflecken gelten. Inwieweit sie in dieser Beziehung die Probe von Florence ergänzen oder ersetzen kann, soll noch besprochen werden.

Hier mögen noch einige Modifikationen der Barberio'schen Probe erwähnt werden. Den Nachteil der Kleinheit der Kristalle suchte Bocarius durch folgende Mischung zu vermeiden:

Sol. acid. picronitic. aqu. conc.	25,0
Kadmii jodat.	3,0
Gummi arab.	2,0

Die Kristalle wurden größer und dadurch leichter erkenntlich.

Ebenso gute Resultate erzielte Bocarius mit folgender Reagens:

Acid. acet. glac.	
Aqua destill.	āā
Acid. picronitric.	qu. s. ad Satur.

Cevidalli verwendete als Reagens eine Lösung von Pikrinsäure in Glycerin unter geringem Zusatz von absolutem Alkohol.

Takayama versuchte eine Kombination der Methode von Florence mit der von Barberio.

Eine dritte mikroskopische Spermaprobe stammt von De Dominicis (Pavia).

Ein Tropfen gesättigter wässeriger Lösung von Aurum tribromatum wird mit einem Tropfen Sperma oder Spermaextrakt zusammengebracht und gemischt. Es bildet sich sofort ein makroskopisch sichtbarer goldgelbbräunlicher, krümeliger Niederschlag. Mikroskopisch sieht man einen feinen, schwarzen, körnigen Niederschlag. Es wird vorsichtig erhitzt, beim Erkalten sieht man dann die Kristalle auftreten. Es sind dunkelrote Mikrokristalle von 20—30 μ Durchmesser. Die Form ist die von Kreuzen, Vierlingen, von Quadraten und von schmalen Kristallen mit mehr oder weniger spitzer Form wie die Barberiosche.

Nach De Dominicis ist die Reaktion an die Anwesenheit von Spermin gebunden. Die Reaktion würde also durch denselben Faktor hervorgerufen wie die Barberiosche. Das scheint aber nicht ganz richtig zu sein. Speziell die charakteristischen Kristalle, die Kreuz- und Vierlingsformen entstehen durch das Cholin, das auch für die Entstehung der Florence-Kristalle in Betracht kommt. Macht man die Goldtribromidprobe mit Cholin.

so erhält man außerordentlich viele De Dominicis'sche Kristalle.

Bei Verwendung von frischem Sperma entstehen außerordentlich reichliche Kristalle. Besonders hervorstechend sind goldbraune, dunkle Kreuzformen mit allen möglichen Uebergängen zu Würfeln. Dunkle Rechtecke sieht man nicht. Auch hellere Würfel, dann hellere Formen, wie die Florence-Kristalle gestaltet, sind in großer Masse vorhanden. Daß aber nur die dunkeln Kreuz- und Quadratformen als charakteristisch anzusehen sind, lehren Präparate, die ohne Sperma, nur mit Goldtribomid allein gemacht, ganz schöne, helle Quadrate und hier auch Rechtecke, dann bei weiterem Erkalten ähnliche Formen zeigen, wie sie bei der Florence-Reaktion auftreten. Die Kreuzformen werden nach längerem Stehen Würfel.

Ein Nachteil der Probe ist ihre Umständlichkeit gegenüber den anderen, vorerwähnten Proben. Es ist genau der richtige Hitzgrad einzuhalten. Erhitzt man zu stark oder zu wenig, so entstehen keine Kristalle. Auch diese Probe ist nicht spezifisch auf Sperma. Peset Aleixandre erwähnt, daß Urin eine ganz ähnliche Reaktion wie Sperma gebe.

Es ist klar, daß, wenn Cholin eine Ursache der Kristallbildung darstellen soll, auch Substanzen, die Cholin enthalten, die Kristalle geben müssen. So erhält man sehr schöne Kristallformen mit dem Schimmel eines Eigelbs.

Frisches Eigelb mit Säuren und Wasser gekocht, gibt sehr schöne und außerordentlich viele Kristallformen, besonders schöne Eigelb mit Salpetersäure gekocht. (Pyridin gibt mit der Goldprobe eine große Menge von Kristallen nach Art der Florence-Kristalle.)

Wie bei der Florence-Probe, so wirkt auch hier Fäulnis störend auf den Ausfall der Reaktion: mit gefaultem Sperma erhält man Kristalle nicht.

Eigelb mit Säuren zersetzt, gibt, wie oben angeführt, die Goldprobe. Alkalisiert man die betreffende Lösung mit Natron oder Kalilauge, so erhält man keine Kristalle mehr. Schon bei neutraler Lösung fällt die Reaktion negativ aus. Besonders störend sind weiters Verunreinigungen des zu untersuchenden Materials, besonders durch Zellbestandteile. Darin zeigt sich ein Nachteil gegenüber der Florence-Probe. Während diese bei dem Vaginalsekret einer 20jährigen frischen Leiche, in dem sich Spermatozoen fanden, sehr schöne Kristalle ergab, erhielt ich mit der Goldprobe nicht einen einzigen schönen Kristall, trotz wiederholten Versuchen. Das Reagens wurde von den Zellen in Beschlag genommen, die sich sehr schön mit dem Goldtribromid färbten.

Modifiziert wurde die Goldtribromidprobe von Peset Aleixandre. Statt des Tribromids nahm er einen Tropfen Goldchlorid und Bromkali, beides in gesättigter Lösung, brachte dazu Sperma und erhitzte vorsichtig.

Nach dem Erkalten erhielt er zwei Arten von Kristallen, längliche, spitze, ähnlich denen von Barberio, und quadratische, von granatroter Farbe und 20—50 μ groß. Löslich waren sie in Alkali und Alkohol, nicht in Säuren. Auch sind sie einige Zeit beständig. Jedoch hat diese Modifikation, wie schon der Verfasser selbst zugibt, vor allem den Nachteil, daß sie nicht sehr empfindlich ist. Schon eine Spermalösung von 1:10 gibt nur wenig Kristalle. Außerdem gibt auch Urin die gleichen Kristalle, wenn man 50 ccm eindampft und den Rückstand in Alkohol extrahiert. Nach Peset Aleixandre entstehen die Quadrate durch das Cholin, den Stoff, der die Florence-Reaktion hervorruft, und die spitzen Kristalle durch das Spermin, das die Barberiosche Reaktion verursacht.

Von anderen mikrochemischen Methoden sei hier noch die von Bocarius angegebene Reaktion erwähnt. Er erhielt durch Mischung von konz. wässeriger Lösung von Acid. phosphor-wolframic. mit einem Tropfen wässerigen Extraktes menschlichen Samens zahlreiche, bei 500facher Vergrößerung als farblose, klare, semilunare Fleckchen erscheinende Kristalle, die er sonst nirgends erhielt.

Wenn man die Florence-, die Barberiosche und die von de Dominicis angegebene Aurum tribromatum-Probe durch Parallelversuche vergleicht, so gibt die besten Resultate die Florencesche Probe. Ich habe sämtliche Flecken, die

mir aus dem Gerichtlich-medizinischen Institute zur Verfügung gestellt wurden, vergleichend mit den drei Reagenzien geprüft. Alle Flecken, die nachweisbar Spermatozoen enthielten, ergaben mit der größten Leichtigkeit die Florence-Reaktion, selbst die ältesten Flecken ohne jede Schwierigkeit. Nur ganz wenige Flecken ergaben die Barberiosche Reaktion. Während überall die Florence-Probe reichlich und leicht übersichtlich ausfiel, kostete die Auffindung der Barberioschen Kristalle beträchtliche Mühe. Etwas häufiger war der positive Ausfall bei der Aurum tribromatum-Probe. Vor allem die Flekken, die reichlich die Florence-Probe geben, geben auch besonders leicht die Goldprobe. Hier macht sich aber der Nachteil geltend, daß zum Gelingen der Reaktion eben gerade der richtige Grad der Erhitzung erreicht werden muß. Wird zu wenig oder zu viel erhitzt, so fällt die Reaktion negativ aus und wird so manches Präparat mißlingen.

Merkwürdig ist bei der Florence-Reaktion, daß bei Vergleich von ganz frischen Spermaflecken mit älteren Flecken die Kristalle bei den jüngsten viel langsamer zum Vorschein kommen, als die Kristalle der älteren Flecken. So gab ein zwei Tage altes angetrocknetes Sperma erst in einer Minute erkennbare größere Kristalle. Auch werden die Kristalle nicht so groß wie bei älterem Sperma. Ob man das Material aus der Mitte oder aus

der Peripherie nimmt, ist bei der Florence-Probe vollständig gleichgültig. Umgekehrt ist es bei der Barberio-Probe. So gaben Stückchen, aus dem Zentrum herausgeschnitten, in destilliertem Wasser aufgeweicht, sofort beim Zubringen der Pikrinsäurelösung einen intensiv weißen und leicht erkenntlichen Niederschlag. Bei der Untersuchung mit dem Mikroskope fanden sich sofort die gesuchten Kristalle in großer Anzahl. Bei den Fleckchen der Peripherie erhielt man eine nur ganz geringe Trübung und die Zahl der Kristalle war viel geringer.

Der Vergleich bei Proben mit flüssigem Sperma ergibt folgendes: Alle drei Reaktionen fallen sehr stark positiv aus. Etwas Verdünnung mit Wasser schadet keiner der Reaktionen. Bei immer stärkerer Verdünnung mit Wasser wird die Florence-Probe immer schwächer und schließlich erlischt sie vollkommen; die Pikrinsäurereaktion kann dagegen noch gelingen. Wie schon anderweitig erwähnt, kann diese Reaktion bei frischem Sperma eine stärkere Verdünnung ertragen als die Florence-Reaktion. Umgekehrt ist es bei Flecken von angetrocknetem Sperma. In der ersten Zeit gelingt ja die Barberiosche Reaktion noch verhältnismäßig leicht. Aber je älter der Flecken ist, um so konzentrierter muß die Lösung erhalten werden, um eine einigermaßen sichere Reaktion hervorzubringen. Hat ja schon Cevidalli empfohlen, den

Tropfen der verdächtigen Flüssigkeit auf dem Objektträger durch leichtes Erwärmen eintrocknen zu lassen und dies mehrmals zu wiederholen. Auch soll das Reagens nicht so reichlich zugesetzt werden. Die Aurum tribromatum-Probe verträgt fast keine auch nur geringe Verdünnung.

Keine der mikrochemischen Reaktionen ist ausschließlich spezifisch für Sperma. Sie können nur als Vorprobe zur leichteren Differenzierung der Flecke gelten. Es ist daher klar, daß diejenige Reaktion den größten praktischen Wert besitzt, die schnell und leicht herzustellen ist, und am meisten Uebersichtlichkeit bei der Untersuchung darbietet. Das trifft vorzüglich für die Florence-Reaktion zu. Sie bietet am meisten Vorteile. Sie ist leicht und bequem anzustellen. Die Kristalle sind groß, deutlich und charakteristisch. Die Reaktion tritt schnell auf und selbst die ältesten Flecken geben sie mit Leichtigkeit. Außerdem braucht man nicht viel Material, es genügt ein ganz kleines Stückchen des betreffenden verdächtigen Flecks zur Auslösung der Reaktion. Der einzige Nachteil ist das Verschwinden der Reaktion bei Fäulnis und Schimmelbildung, der aber keine allzu große praktische Bedeutung hat; man hat es ja meist mit an Hemden und anderen Kleidungsstücken angetrockneten Spermaflecken zu tun, bei denen sich Fäulnis oder Schimmelbildung nicht einstellt, es sei denn, daß die Objekte in feuchtem Zustande

verpackt bei Zimmertemperatur längere Zeit aufbewahrt wurden. In solchen Fällen wird dann schon der mikroskopische Befund (Bakterien und Schimmelpilzsporen) auf die Möglichkeit einer Zersetzung des Cholins aufmerksam machen; der mikroskopische Nachweis von Spermatozoen ist übrigens in solchen verschimmelten Flecken meist nicht mehr möglich.

Viel mehr Umstände macht die Barberiosche Reaktion. Die Kristalle sind sehr klein, sind nur mit Mühe zu finden, weil sie spärlich sind; je älter die Flecken sind, oft schon nach zwei Wochen, desto schwerer bekommt man Kristalle. Man braucht dann bedeutend mehr Material als mit der Florenceschen Probe. Die Kristalle kommen auch langsamer zum Vorschein als die Florence-Kristalle. Gegen Fehler der Technik ist die Probe weit empfindlicher als die Florencesche. Man muß die Fleckchen viel länger in Wasser aufweichen lassen und möglichst konzentrierte Macerate herstellen. Gut wird man daran tun, das Deckgläschen erst nach einiger Zeit aufzulegen. Für den Ausfall der Reaktion ist es besser, aus dem zentralen Teil der Flecken das Material zu nehmen. Aber dadurch nimmt man oft der eigentlichen beweiskräftigen Probe, den mikroskopischen Nachweis der Spermatozoen, das beste Material weg.

Wie bei der Florence-Probe, so wirkt auch bei der Barberioschen Reaktion die

Fäulnis und die Schimmelbildung schädigend ein. Ein Vorteil gegenüber der Florenceschen Probe ist nur die Haltbarkeit der Kristalle.

Etwas bessere Resultate erzielt man mit der de Dominicischen Probe bei älteren Flecken, aber auch nur dann, wenn in den Flecken sich mittelst der Florence-Reaktion reichlich Kristalle finden lassen. Sind diese spärlicher, so kann die Aurum tribromatum-Reaktion schon negativ ausfallen. Ein wesentlicher Nachteil dieser Probe ist aber die umständliche Herstellung der Präparate und die Unsicherheit des Erfolges. Erhitzt man zu wenig oder zu stark, so erhält man keine Kristalle. Ein Vorteil ist die Haltbarkeit der Probe gegenüber der Florenceschen. Die Kreuzformen werden zu Quadraten, die sehr lange erhalten bleiben. Der Tropfen der spermahaltigen Flüssigkeit, zu dem man das Goldtribromid bringt, darf auch nicht zu groß sein. Beim Erhitzen werden die Kristalle an den Rand geschleudert, so daß man sie am besten an den Ecken des Deckgläschens findet. Ist zu viel Flüssigkeit vorhanden, so quillt beim Bedecken der Tropfen die Lösung an den Seiten heraus und man bekommt unter dem Deckgläschen keine Kristalle, sondern nur außerhalb und auch nur dann, wenn man ganz vorsichtig erhitzt hat. Ganz frische Flecken geben die de Dominicische Reaktion viel weniger, als die älteren Flecken. Man tut am besten daran, wenn man ohne Deckgläschen erhitzt. Beein-

trächtigt wird auch diese Probe durch Fäulnis. Auch Zellelemente, wie sie sich z. B. im Vaginalsekret finden, stören die Reaktion außerordentlich, jedenfalls in solchem Maße, wie man es bei der Florence-Reaktion nicht findet.

Alle diese Umstände lassen daher die Florence-Reaktion als die für den Praktiker leichteste und bequemste Methode erscheinen, die bei sachgemäßer Bewertung des Befundes Irrtümer nicht verursachen kann.

* * *

Zum Schlusse gestatte ich mir noch, Herrn Professor Richter für die gütige Ueberweisung dieser Arbeit und für die ständige Unterstützung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur:

Florence: Du Sperme et des Taches de Sperme en Médicine Légale Lyon 1897.

Richter: Der mikrochem. Nachweis von Sperma. Wiener Klin. Wochenschrift X. Jahrgang No. 24. 1897.

Richter: Die Spermaprobe von Florence. Zeitschrift für Medizinalbeamte. Heft 24. 1897.

Lecco: Ueber die mikrochem. Erkennung der Spermaflecken in Kriminalfällen. Wiener klin. Wochenschr. No. 37. 1897.

Gumprecht: Ueber das Wesen der Jodreaktion („Florence'sche Reaktion") im Sperma und ausserhalb desselben. Zentralbl. für Allg. Pathologie und Pathol. Anat. IX. B. 1898.

Goldschmidt Max: Die Florence-Probe. Inaugural-Dissertation Greifswald. 1903.

Barberio: Rendiconto della R. Accad. delle Science di Napoli. April 1905.

Takayama: Beiträge zur Toxikologie und gerichtlichen Medizin, Stuttgart 1905.

Cevidalli: Ueber eine neue mikrochem. Reaktion des Spermas. Vierteljahrsschrift für ger. Medizin 1906. Heft 1. S. 27.

Bocarius: Ueber einige mikrochem. Reaktionen des Spermas. Vierteljahrsschr. f. ger. Medizin N./B. 33. S. 217.

Fränkel und Müller: Die Barberio'sche Spermareaktionen. München mediz. Wochenschr. 1908 S. 924.

Kathe: Der Spermanachweis. Friedreichs Blätter III. Heft 1910.

A. de Dominicis: Eine neue Sperma-Reaktion. Risveglio medico 1910. Ref. i. d. Zeitschr. für Medizinalbeamte 23. Jahrg. No. 20. 1910.

I. Peset Aleixandre: Die Goldsalze in der Mikrochemie des Spermas (Rev. de Med. y Cir. Pract. 14. Okt. 1910). Ref. i. d. Münchn. med. Wochenschr. No. 5. 1911.

Joesten: Ueber forensischen Spermanachweis. München. med. Wochenschr. No. 34. 1911.

Lebenslauf:

Ich wurde am 5. Dezember 1885 als der Sohn des praktischen Arztes Dr. Georg Egger in Untergriesbach (Kreis Niederbayern) geboren. Die Volksschule besuchte ich in Tittmoning (Kreis Oberbayern), besuchte dann 4 Jahre das Progymnasium in Schäftlarn. Das Reifezeugnis erhielt ich 1905 am Kgl. Ludwigsgymnasium München. Wintersemester 1905/06 immatrikulierte ich mich als Studierender der Medizin an der Universität München, an der ich 1909 meine ärztliche Vorprüfung und am 20. Dezember 1911 die ärztliche Approbationsprüfung bestand. Im Sommersemester 1909 genügte ich meiner Militärpflicht beim I. Inf.-Regt. „König". Seit 1. Januar 1912 bin ich als Medizinalpraktikant in der K. Universitäts-Augenklinik zu München.